

## 草麻黄中一种鞣质化合物对卵清白蛋白致敏哮喘小鼠的干预作用

吴媛媛<sup>1,2</sup>, 曾梦楠<sup>1,2,3</sup>, 刘青<sup>1,2</sup>, 马新毅<sup>1,2</sup>, 焦新棉<sup>1,2</sup>, 王昊宇<sup>1,2</sup>, 陈艳玲<sup>1,2</sup>, 郑晓珂<sup>1,2,3\*</sup>, 冯卫生<sup>1,2,3</sup>

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

3. 河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046

**摘要:** 目的 探究草麻黄 *Ephedra sinica* 中一种鞣质化合物 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -epoxyfavan-5, 7, 4'-triol-(4 $\alpha$ →8)-epiafzelechin (Ete) 对卵清白蛋白 (ovalbumin, OVA) 致敏哮喘小鼠的干预作用, 为丰富麻黄抗哮喘的研究以及拓展麻黄临床应用提供实验依据。方法 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠适应性喂养 1 周, 随机分为对照组、模型组、阳性对照药孟鲁司特钠 (1.314 mg/kg) 组和 Ete 低、高剂量 (10、20 mg/kg) 组, 采用 ip OVA 与 Al<sub>2</sub>(OH)<sub>3</sub> 混悬液联合 OVA 雾化激发的方法建立哮喘小鼠模型, 持续给药 1 周。通过检测小鼠咳嗽和喘息次数、气道高反应性、血清免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 以及小鼠肺部组织病理变化初步评价 Ete 抗 OVA 致敏哮喘的药效; 多指标流式联合分析系统检测与哮喘密切相关的因子水平; 流式细胞术检测小鼠肺组织活性氧、凋亡和钙离子水平以及小鼠机体免疫细胞 (树突状细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞) 水平; ELISA 检测小鼠血清白三烯 C4 (leukotrienes C4, LTC4)、组胺 (histamine, HIS)、 $\beta$ -肥大细胞类胰蛋白酶 ( $\beta$ -mast cell tryptase, MCT- $\beta$ ) 水平; Western blotting 检测肺组织中转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、Smad3、MUC5AC 和表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 蛋白表达水平。结果 与模型组比较, Ete 显著抑制哮喘小鼠气道高反应性, 降低血清 IgE 水平 ( $P < 0.01$ ), 减少咳、喘次数, 延长咳、喘潜伏时间 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ), 降低血清中 IL-13、TNF- $\alpha$ 、CCL11 水平 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ), 升高 IL-10 水平 ( $P < 0.05$ ), 降低肺组织中活性氧、凋亡、树突状细胞和嗜酸性粒细胞水平 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ), 降低肥大细胞及其脱颗粒过程关键介质 LTC4、HIS、MCT- $\beta$  和 MCP-1 的水平 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ), 降低黏液分泌相关蛋白 TGF- $\beta$ 1、Smad3、EGFR 和 MUC5AC 的水平 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ )。结论 草麻黄中一种鞣质化合物 Ete 通过抑制肥大细胞活化和黏液蛋白分泌来改善 OVA 诱导的小鼠过敏性哮喘。

**关键词:** 麻黄; 草麻黄; 鞣质; 哮喘; 肥大细胞; 黏液分泌

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)07-2364-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.07.013

## Intervention effect of a tannin compound from *Ephedra sinica* on OVA-sensitized asthmatic mice

WU Yuanyuan<sup>1,2</sup>, ZENG Mengnan<sup>1,2,3</sup>, LIU Qing<sup>1,2</sup>, MA Xinyi<sup>1,2</sup>, JIAO Xinmian<sup>1,2</sup>, WANG Haoyu<sup>1,2</sup>, CHEN Yanling<sup>1,2</sup>, ZHENG Xiaoke<sup>1,2,3</sup>, FENG Weisheng<sup>1,2,3</sup>

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

3. Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of P. R. China, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

**Abstract: Objective** To explore the intervention effect of a tannin compound 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -epoxyfavan-5, 7, 4'-triol-(4 $\alpha$ →8)-epiafzelechin (Ete), extracted from *Ephedra sinica* on ovalbumin (OVA)-sensitized asthmatic mice, providing experimental evidence to enrich the research on anti-asthmatic properties of Mahuang (*Ephedrae Herba*) and expand its clinical applications. **Methods** SPF female

收稿日期: 2024-10-31

基金项目: 国家重点研发计划—中医药现代化研究专项 (2019YFC1708802); 国家自然科学基金资助项目 (32200322); 河南省高层次人才特殊支持计划“中原千人计划”—中原领军人才 (ZYQR201810080); 河南省科技研发计划联合基金 (242301420082)

作者简介: 吴媛媛 (1997—), 女, 博士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: WYY96191711@163.com

\*通信作者: 郑晓珂 (1961—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: zhengxk.2006@163.com

BALB/c mice were acclimatized for one week and randomly divided into control group, model group, positive drug montelukast (1.314 mg/kg) group and Ete low-, high dose (10, 20 mg/kg) groups. An asthma mouse model was established by intraperitoneal injection of OVA and  $Al_2(OH)_3$  suspension combined with OVA atomization excitation, with continued administration for one week. The efficacy of Ete against OVA-sensitized asthma was evaluated by detecting cough and wheezing numbers, airway hyperresponsiveness, serum immunoglobulin E (IgE) and pathological changes of lung tissue in mice. Multi index flow based joint analysis system was used to detect the levels of factors closely related to asthma. Flow cytometry was used to detect the levels of reactive oxygen species (ROS), apoptosis and  $Ca^{2+}$  in lung tissue of mice and the levels of immune cells (dendritic cells, eosinophils and mast cells) in mice. The levels of serum leukotrienes C4 (LTC4), histamine (HIS) and  $\beta$ -mast cell tryptase (MCT- $\beta$ ) in mice were detected by ELISA. The protein expression levels of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), Smad3, MUC5AC and epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung tissue were detected by Western blotting. **Results** Compared with model group, Ete significantly inhibited airway hyperreactivity in asthmatic mice, reduced serum IgE level ( $P < 0.01$ ), decreased the frequency of coughing and wheezing, and prolonged the latency for coughing and wheezing ( $P < 0.05, 0.01$ ), lowered serum IL-13, TNF- $\alpha$  and CCL11 levels ( $P < 0.05, 0.01$ ), while increased IL-10 level ( $P < 0.05$ ), reduced levels of ROS, apoptosis, dendritic cells and eosinophils in lung tissue ( $P < 0.05, 0.01$ ), decreased the levels of mast cells and key mediators involved in their degranulation process (LTC4, HIS, MCT- $\beta$  and MCP-1) ( $P < 0.05, 0.01$ ), reduced the levels of mucin-secreting proteins TGF- $\beta$ 1, Smad3, EGFR and MUC5AC ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** A tannin compound Ete from *E. sinica* improves OVA-induced allergic asthma in mice by inhibiting mast cell activation and mucin secretion.

**Key words:** *Ephedrae Herba*; *Ephedra sinica* Stapf; tannin; asthma; mast cells; mucin secretion

哮喘即支气管哮喘，是一种以慢性气道炎症为特点的异质性疾病<sup>[1]</sup>。据世界卫生组织统计，每年至少有 25 万人死于哮喘<sup>[2]</sup>，给患者和社会带来沉重负担。现今临床常用抗哮喘药可有效控制症状，减少急性发作，但随之而来的患者依从性差、不良反应较多等弊端依然给患者带来极大的困扰<sup>[3-4]</sup>。因此，继续探索开发更有效、更安全的哮喘治疗药物势在必行。

中医药从整体角度治疗哮喘已有几千年的历史<sup>[5]</sup>。麻黄作为“肺经专药”，既善于宣通肺气，又长于降逆平喘，为宣肺平喘的首选药物。在古今治疗哮喘的方剂中，麻黄的使用频率超过半数，曾为哮喘用药之首。麻杏石甘汤、射干麻黄汤和小青龙汤等方剂中均以麻黄为君药使用治疗哮喘<sup>[6]</sup>。本课题组及其他中外研究者的现代药理学研究也表明麻黄及其组分和单体化合物对哮喘有良好的干预作用<sup>[7-11]</sup>，主要体现在松弛支气管平滑肌、减轻气道黏膜水肿、抑制气道炎症等方面，但其抗哮喘的物质基础及具体作用机制尚不能完全阐明。深层次挖掘并阐明麻黄抗哮喘的内涵以及基于麻黄开发治疗哮喘的新疗法任重道远。本课题组长期致力于麻黄药效物质基础及作用机制研究，从麻黄中分离得到大量单体化合物<sup>[12-19]</sup>。前期体外活性筛选实验发现，麻黄中一种鞣质化合物 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -epoxyfavan-5, 7, 4'-triol-(4 $\alpha$ →8)-epiafzelechin (Ete, 结构式见图 1) 可以抑制 C48/80 诱导的 RBL-2H3 细胞脱颗粒并具有良好的抗炎活性，推测 Ete 可能具有一定的抗哮喘

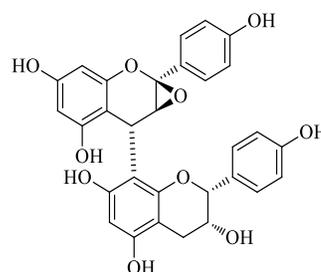


图 1 Ete 结构式

Fig. 1 Structural formula of Ete

活性，且鲜少见关于麻黄鞣质化合物体内实验研究的相关报道。为此，本研究选择了研究最充分、模型最成熟的卵清白蛋白 (ovalbumin, OVA) 致敏哮喘模型对 Ete 治疗哮喘的潜力展开了体内实验，为丰富麻黄抗哮喘的研究以及拓展麻黄临床应用奠定实验基础。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雌性 BALB/c 小鼠，体质量 15~17 g，6 周龄，购自浙江维通利华实验动物技术有限公司，许可证号 SCXK (浙) 2019-0001。小鼠饲养于清洁级动物实验室内，昼夜更替，饲养温度 18~22 °C，自由进食饮水，适应性喂养 1 周。动物实验经河南中医药大学动物伦理委员会批准 (批准号 DWLL2018080003)。

### 1.2 药品与试剂

化合物 Ete ( $C_{30}H_{24}O_{10}$ , ESI-MS  $m/z$  545 [ $M+H$ ] $^+$ ) 是本课题组前期从麻黄科植物草麻黄 *Ephedra*

*sinica* Stapf 中分离所得的一种已知化合物, 质量分数  $\geq 98\%$ ; 孟鲁司特钠 (批号 J20130047) 购自 Organon 公司; II 级 OVA (批号 A5253)、V 级 OVA (批号 A5503) 购自美国 Sigma 公司; 氯化乙酰甲胆碱 (批号 C12410057)、磷酸组胺 (批号 H8530) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 多指标流式联合分析试剂盒 (批号 RK04384)、 $\beta$ -actin 抗体 (批号 AC026)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 A19056) 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;  $\beta$ -肥大细胞类胰蛋白酶 ( $\beta$ -mast cell tryptase, MCT- $\beta$ )、组胺 (histamine, HIS)、白三烯 C4 (leukotrienes C4, LTC4) 和免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 试剂盒 (批号分别为 MM-46274M1、MM-0548M1、MM-0395M1、MM-0056M1) 购自江苏酶免实业有限公司; 凋亡试剂盒 (批号 559763) 购自美国 BD 公司; 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 试剂盒 (批号 CA1410)、钙离子荧光探针 (批号 F8500)、全蛋白提取试剂盒 (批号 BC3710)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号 PC0020) 购自北京索莱宝科技有限公司; 转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 抗体 (批号 ab215715)、MUC5AC 抗体 (批号 ab198294) 购自英国 Abcam 公司; Smad3 抗体 (批号 66516-1-Ig)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 抗体 (批号 18986-1-AP) 购自美国 Proteintech 公司; 兔源荧光二抗 (批号 C71214-01) 购自美国 LI-COR 公司。

### 1.3 仪器

YLS-8A 型多功能诱咳引喘仪 (济南益延科技发展有限公司); 402A1 型超声雾化器 (江苏鱼跃医疗设备股份有限公司); FinepointeTMWBP 系统 (Harvard Bioscience 公司); 多指标流式联合分析仪 (武汉爱博泰克生物科技有限公司); BD FACS Aria III 流式细胞仪 (美国 BD 公司); Trans-Blot®Turbo™ 半干转膜仪和 OwerPac™ 通用电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); Odyssey CLx 双色红外荧光成像系统 (美国 LI-COR 公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物模型的建立及给药

小鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、孟鲁司特钠 (1.314 mg/kg) 组和 Ete 低、高剂量 (10、20 mg/kg) 组, 每组 10 只。采用 ip OVA 与  $Al_2(OH)_3$  混悬液联合 OVA 雾化激发的方法建立

过敏性哮喘小鼠模型。取 50  $\mu$ g OVA、2 mg  $Al_2(OH)_3$  溶于 0.2 mL 无菌生理盐水, 除对照组外, 其余各组在第 0、7、14 天 ip V 级 OVA 与  $Al_2(OH)_3$  混悬液 0.2 mL 致敏。第 21~27 天为雾化激发期, 采用生理盐水配制的 1% II 级 OVA 激发液进行雾化激发, 30 min/次, 1 次/d。各给药组在激发前 30 min ig 相应药物 (10 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水, 1 次/d, 连续给药 7 d。

### 2.2 咳喘指标检测

将小鼠放置于多功能诱咳引喘仪的气雾箱中, 用 25% 氨水喷雾诱咳 15 s 取出, 以小鼠腹肌收缩、同时张嘴为标准, 观察小鼠从喷雾开始至第 1 次张口咳嗽的时间, 即小鼠的咳嗽潜伏期。记录小鼠的咳嗽潜伏期及 2 min 内咳嗽次数。

以 0.1% 磷酸组胺和 2% 氯化乙酰胆碱等体积混合液喷雾致喘, 观察小鼠从喷雾开始到出现气短喘促的时间, 即小鼠的引喘潜伏期。记录小鼠的引喘潜伏期及 2 min 内喘息次数。

### 2.3 气道反应性检测

称取 2.5 g 氯化乙酰甲胆碱粉末, 溶于 50 mL 无菌 PBS 溶液, 配成 50 mg/mL 的氯化乙酰甲胆碱溶液, 充分混匀后, 逐级稀释获得 25.000、12.500、6.250、3.125 mg/mL 的氯化乙酰甲胆碱溶液。

打开 FinePointe™ WBP 系统, 校准后创建实验方案, 利用 PBS 溶液调整基线值, 随后每只小鼠给予 0、3.125、6.250、12.500、25.000、50.000 mg/mL 的氯化乙酰甲胆碱溶液雾化吸入, 每个剂量雾化 1 min, 记录 5 min。

### 2.4 多指标流式联合分析

利用多指标流式联合分析试剂盒, 严格按照说明书的要求检测小鼠血清中白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4)、IL-5、IL-10、IL-13、肿瘤生长因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、CC 趋化因子配体 11 (C-C motif chemokine ligand 11, CCL11)、IL-17A、肥大细胞蛋白酶-1 (mast cell protease-1, MCP-1) 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 的含量。

### 2.5 流式细胞术检测外周血、肺泡灌洗液和肺组织中免疫细胞水平

取小鼠外周血 100  $\mu$ L 于流式管中, 用 CD11c 和 CD86 抗体标记树突状细胞, 经孵育、裂解红细胞以及洗涤后上机检测分析。

将小鼠仰卧位固定,分离颈部气管插管,用生理盐水灌洗 4 次,0.5 mL/次,获取肺泡灌洗液,3 000 r/min 离心 15 min,取沉淀细胞重悬,以 CD45、CD11b 和 CD170 标记嗜酸性粒细胞,经孵育和洗涤后使用流式细胞仪进行检测分析。

取各组小鼠相同部位肺组织于 2 mL 离心管中剪碎,加入 1.2 mL 胰酶消化 30~50 min,加入血清终止消化,经 70  $\mu$ m 滤网滤过,1 200 r/min 离心 5 min 收集细胞,随后用 CD45、CD11c 和 CD86 抗体标记树突状细胞;以 CD45、CD11b 及 CD117 抗体标记肥大细胞,经孵育和洗涤后使用流式细胞仪进行检测分析。

## 2.6 流式细胞术检测肺组织 ROS、钙离子和凋亡水平

按“2.5”项下方法获取原代肺细胞,随后按照 ROS、钙离子和凋亡试剂盒说明书步骤进行染色,采用流式细胞仪检测各组小鼠肺组织 ROS、钙离子和凋亡水平。

## 2.7 肺组织病理学评估

选取每组小鼠未经灌洗的左肺,浸泡于 4%多聚甲醛中固定 24 h 后进行石蜡包埋,随后切成 4~5  $\mu$ m 薄片,分别进行苏木素-伊红(HE)、PAS 及 Masson 染色。

## 2.8 Western blotting 检测肺组织 TGF- $\beta$ 1、Smad3、EGFR 和 MUC5AC 蛋白表达

使用全蛋白提取试剂盒从肺组织中提取蛋白质,并使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行定量。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,室温下封闭 1~1.5 h。分别加入 TGF- $\beta$ 1、Smad3、EGFR、MUC5AC、GAPDH 和  $\beta$ -actin 抗体,4  $^{\circ}$ C 孵育过夜;加入相应的荧光二抗,室温孵育 1 h。采用 Odyssey 双色红外荧光成像系统进行扫描分析。

## 2.9 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件对多组数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

### 3.1 Ete 改善 OVA 致敏哮喘小鼠典型症状

如图 2-A 所示,模型组小鼠气道缩窄指数随着激动剂(氯化乙酰甲胆碱)的质量浓度增加而增大,给予药物干预后明显减缓气道缩窄指数的升高幅度。血清 IgE 水平通常用来评价机体的过敏反应,与对照组比较,模型组小鼠血清 IgE 水平显著升高

( $P < 0.01$ , 图 2-B);与模型组比较,各给药组血清 IgE 水平显著降低( $P < 0.01$ )。咳嗽检测发现,模型组咳嗽和喘息次数明显高于对照组( $P < 0.01$ ),咳嗽潜伏期与引喘潜伏期均显著短于对照组( $P < 0.01$ , 图 2-C~F);与模型组比较,各给药组小鼠咳嗽和喘息次数均显著降低( $P < 0.05$ 、0.01),引喘潜伏期显著延长( $P < 0.05$ 、0.01),孟鲁司特钠组和 Ete 高剂量组咳嗽潜伏期显著延长( $P < 0.05$ )。此外,小鼠肺组织病理检测结果显示,对照组小鼠肺泡结构较为完整,支气管壁正常,未见明显病理改变;模型组小鼠支气管周围有大量炎性细胞浸润,支气管壁明显增厚;给予低、高剂量的 Ete 和孟鲁司特钠治疗后不同程度改善了哮喘小鼠肺部炎症和气管壁增厚的病理改变(图 2-G)。以上结果表明 Ete 可有效改善 OVA 致敏哮喘小鼠的典型表现症状,并呈剂量相关性,提示 Ete 具有治疗过敏性哮喘的潜力。

### 3.2 Ete 缓解 OVA 致敏哮喘小鼠机体炎症反应

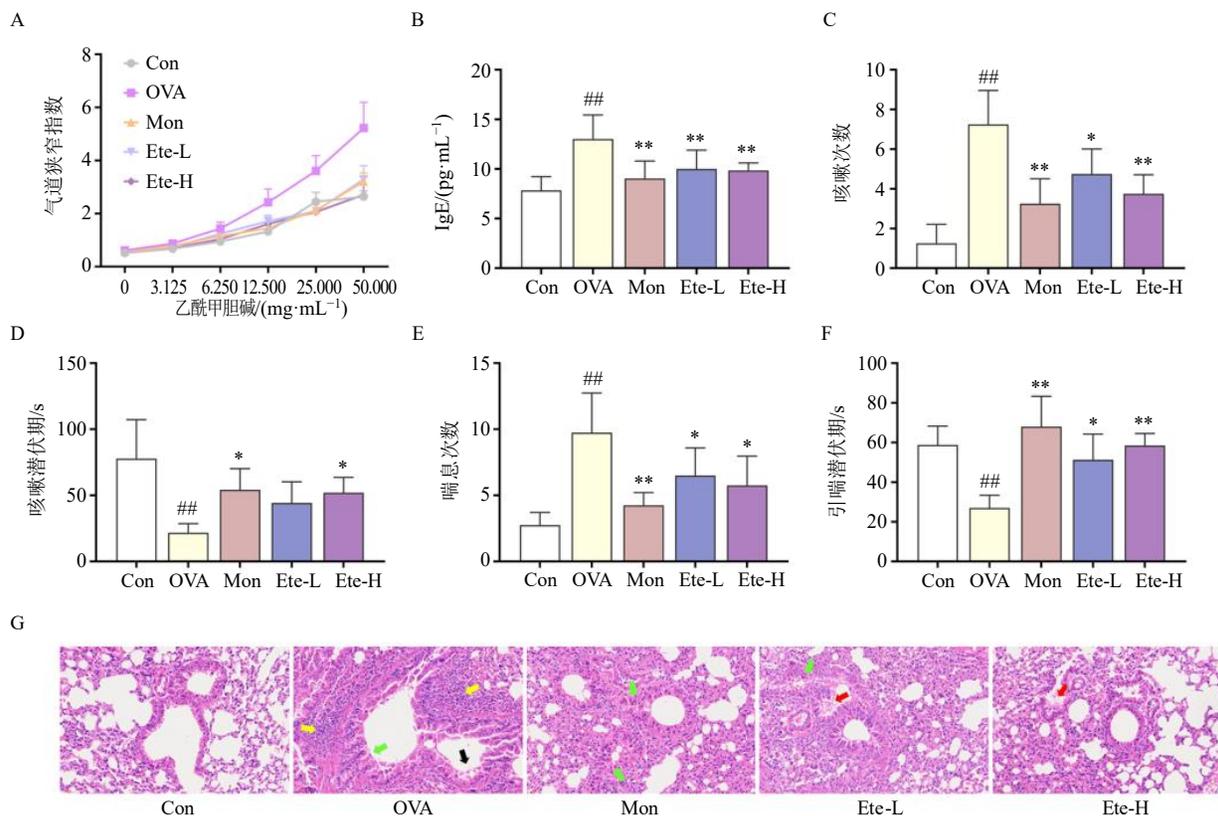
过敏性哮喘是一种存在持续性气道炎症的疾病,本研究检测了与哮喘发生发展密切相关的 8 种炎症类因子以评估 Ete 对哮喘小鼠机体炎症反应的影响。如图 3 所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中 IL-10 水平显著降低( $P < 0.05$ ),IL-13、TNF- $\alpha$ 、CCL11 和 GM-CSF 水平显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,Ete 高剂量组和孟鲁司特钠组 IL-10 水平显著升高( $P < 0.05$ ),CCL11 水平显著降低( $P < 0.05$ );Ete 低、高剂量组 IL-13 水平显著降低( $P < 0.05$ 、0.01),Ete 低、高剂量组和孟鲁司特钠组 TNF- $\alpha$  水平显著降低( $P < 0.05$ 、0.01)。

### 3.3 Ete 降低 OVA 致敏哮喘小鼠肺部氧化应激与凋亡

为了进一步评价 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠肺部的影响,检测了小鼠肺组织 ROS 和凋亡水平,结果见图 4,与对照组比较,模型组小鼠肺组织 ROS 和凋亡水平明显升高( $P < 0.05$ 、0.01);与模型组比较,Ete 低、高剂量组和孟鲁司特钠组肺组织 ROS 水平显著降低( $P < 0.01$ ),孟鲁司特钠组肺组织凋亡率显著降低( $P < 0.05$ ),Ete 各剂量组肺组织凋亡率呈降低趋势。

### 3.4 Ete 调节 OVA 致敏哮喘小鼠机体免疫细胞水平

哮喘的发病进程中涉及多种免疫细胞,而树突状细胞作为炎症反应的始动、维持及调节细胞之一,目前已成为哮喘发病机制研究中的又一热点。本研究通过检测小鼠外周血和肺组织中树突状细



A-气道缩窄指数; B-血清 IgE 水平; C-小鼠咳嗽次数; D-小鼠咳嗽潜伏期; E-小鼠喘息次数; F-小鼠引喘潜伏期; G-小鼠肺组织 HE 染色 (×400), 黄色箭头指示炎症浸润, 绿色箭头指示支气管壁增厚/管腔狭小, 红色箭头指示管腔分泌物, 黑色箭头指示上皮细胞脱落。Con-对照组, OVA-模型组, Mon-孟鲁司特钠组, Ete-L-Ete 低剂量组, Ete-H-Ete 高剂量组; 与对照组比较: #*P*<0.05 ##*P*<0.01; 与模型组比较: \**P*<0.05 \*\**P*<0.01, 下图同。

A-airway narrowing index; B-serum IgE level; C-number of coughs in mice; D-latency of coughs in mice; E-number of wheezes in mice; F-latency of induced wheezing in mice; G-HE staining of lung tissues of mice (× 400), yellow arrow indicates inflammatory infiltration, green arrow indicates bronchial wall thickening/lumen narrowing, red arrow indicates lumen secretion, and black arrow indicates epithelial cell shedding. Con-control group, OVA-model group, Mon-montelukast sodium group, Ete-L-Ete low-dose group, Ete-H-Ete high-dose group; #*P* < 0.05 ##*P* < 0.01 vs control group; \**P* < 0.05 \*\**P* < 0.01 vs model group, same as below figures.

图 2 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠典型表现症状的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 2 Effect of Ete on typical apparent symptoms in OVA-sensitized asthma mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

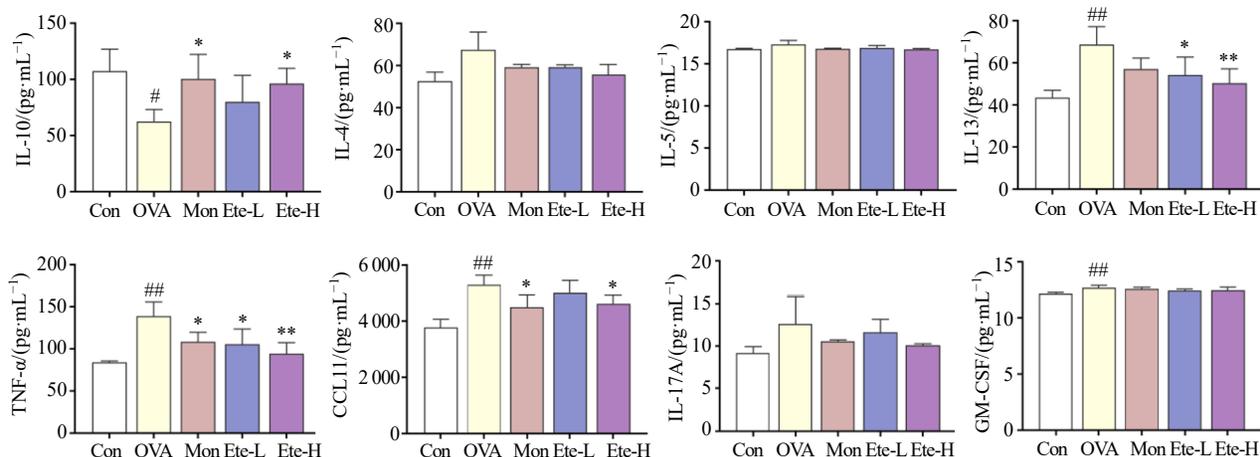
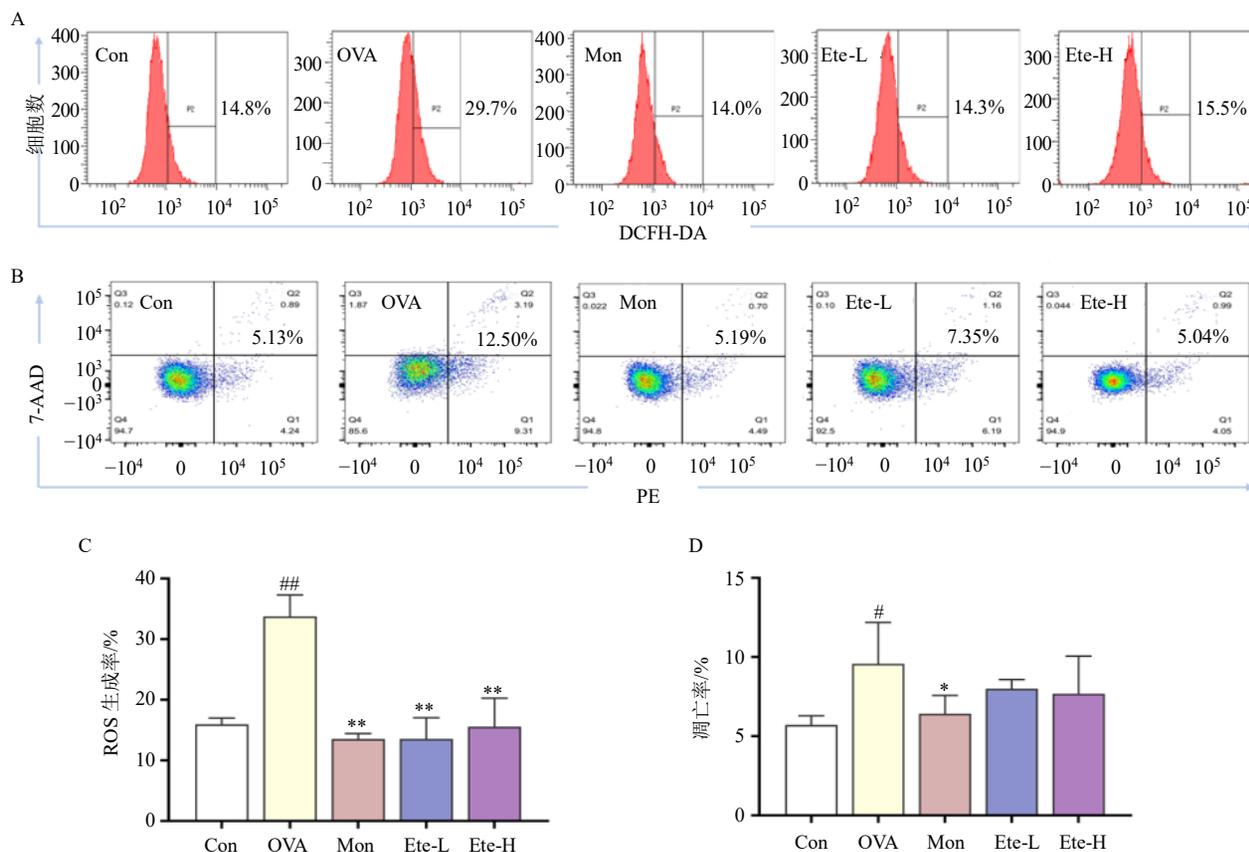


图 3 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠机体炎症反应的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 3 Effect of Ete on organismal inflammatory response in OVA-sensitized asthmatic mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



A-流式细胞术检测各组小鼠肺组织 ROS 水平; B-流式细胞术检测各组小鼠肺组织凋亡水平; C-肺组织 ROS 水平量化图; D-肺组织凋亡水平量化图。

A-ROS level in lung tissues of mice detected by flow cytometry; B-apoptosis level in lung tissues of mice detected by flow cytometry; C-quantitative analysis of ROS level in lung tissue; D-quantitative analysis of apoptosis level in lung tissue.

图 4 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠肺组织 ROS 和凋亡水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

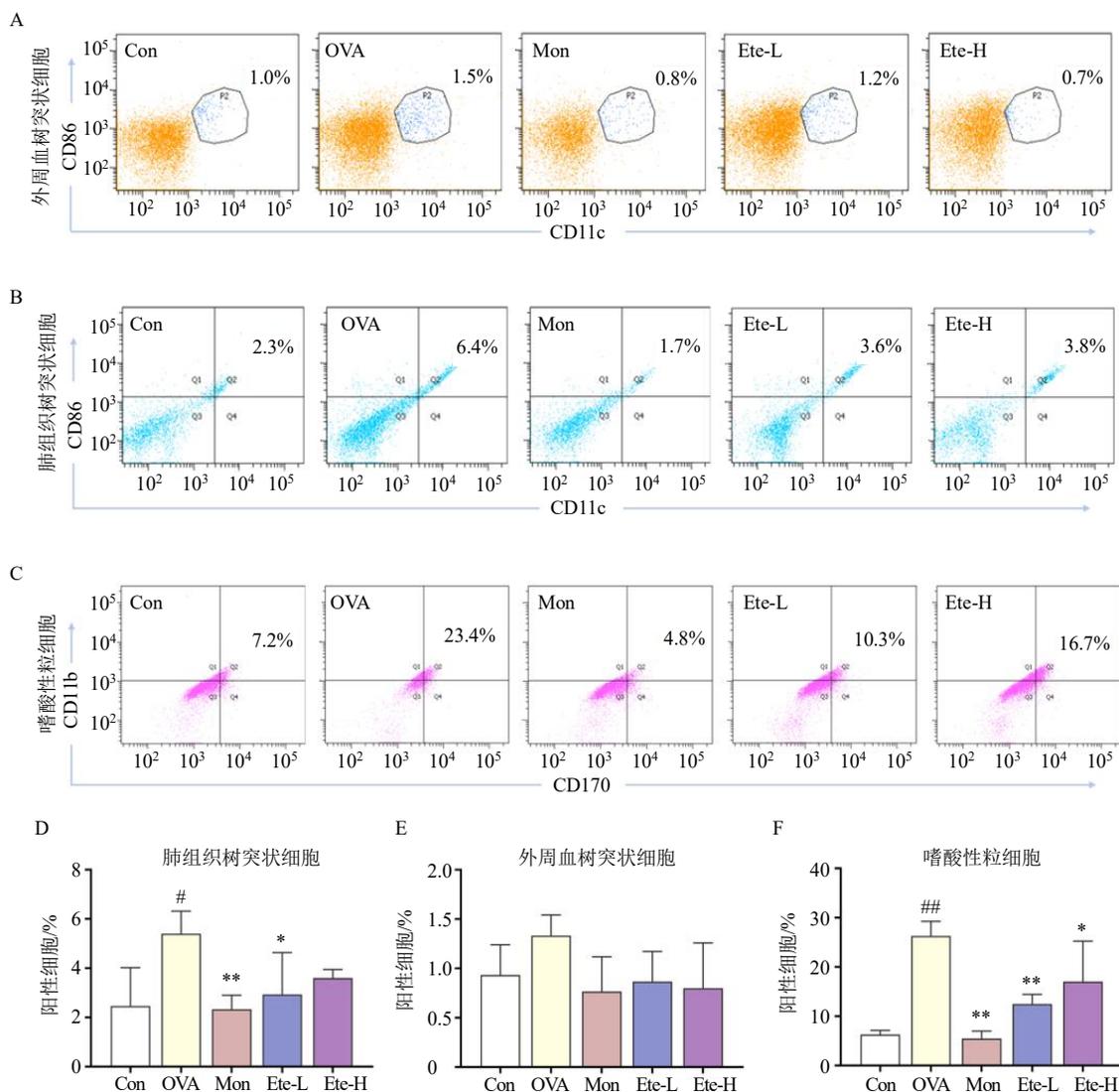
Fig. 4 Effect of Ete on ROS and apoptosis levels in lung tissues of OVA-sensitized asthmatic mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

胞水平发现, 与对照组比较, 模型组肺组织树突状细胞水平显著升高 ( $P < 0.05$ , 图 5-A、B、D、E); 与模型组比较, Ete 低剂量组和孟鲁司特钠组肺组织树突状细胞水平显著降低 ( $P < 0.05、0.01$ )。与此同时, 还检测了 Ete 对小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞水平的影响, 结果表明, 模型组肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞水平显著高于对照组 ( $P < 0.01$ , 图 5-C、F), 各给药组肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞水平均显著降低 ( $P < 0.05、0.01$ )。以上结果中 Ete 的疗效未见剂量相关性, 推测可能与药物作用的双向性和免疫系统的动态平衡特性有关, 更为明确的原因还需后续更深入的研究来揭示。

### 3.5 Ete 抑制 OVA 致敏哮喘小鼠机体肥大细胞活化

肥大细胞的激活是过敏性哮喘的重要驱动因素, 本研究进一步检测了肥大细胞及其脱颗粒进程

密切相关的指标探究 Ete 改善 OVA 致敏哮喘的机制。肺组织钙离子、肥大细胞水平检测结果显示, 与对照组比较, 模型组肺组织钙离子和肥大细胞水平显著升高 ( $P < 0.01$ , 图 6-A~D); 与模型组比较, 各给药组肺组织钙离子水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), Ete 高剂量组和孟鲁司特钠组肺组织肥大细胞水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。此外, 通过检测小鼠血清中肥大细胞脱颗粒相关介质 MCP-1、MCT- $\beta$ 、LTC4 和 HIS 水平发现, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中 MCP-1、MCT- $\beta$ 、LTC4 和 HIS 水平显著升高 ( $P < 0.01$ , 图 6-E~H); 与模型组比较, 各给药组血清 LTC4 和 HIS 水平均显著降低 ( $P < 0.05、0.01$ ), Ete 高剂量组肺组织 MCP-1 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), Ete 高剂量组和孟鲁司特钠组肺组织 MCT- $\beta$  水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。表明 Ete 显著抑制了肥大细胞的活化。



A-流式细胞术检测各组小鼠外周血树突状细胞水平；B-流式细胞术检测各组小鼠肺组织树突状细胞水平；C-流式细胞术检测各组小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞水平；D-肺组织树突状细胞水平量化图；E-外周血树突状细胞水平量化图；F-肺泡灌洗液中 EOS 水平量化图。  
 A-dendritic cells level in peripheral blood of mice detected by flow cytometry; B-dendritic cells level in lung tissue of mice detected by flow cytometry; C-eosinophils level in bronchoalveolar lavage fluid of mice detected by flow cytometry; D-quantitative analysis of dendritic cells level in lung tissue; E-quantitative analysis of dendritic cells level in peripheral blood; F-quantitative analysis of eosinophils level in bronchoalveolar lavage fluid.

图 5 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠机体免疫细胞水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 5 Effect of Ete on levels of organismal immune cells in OVA-sensitized asthmatic mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

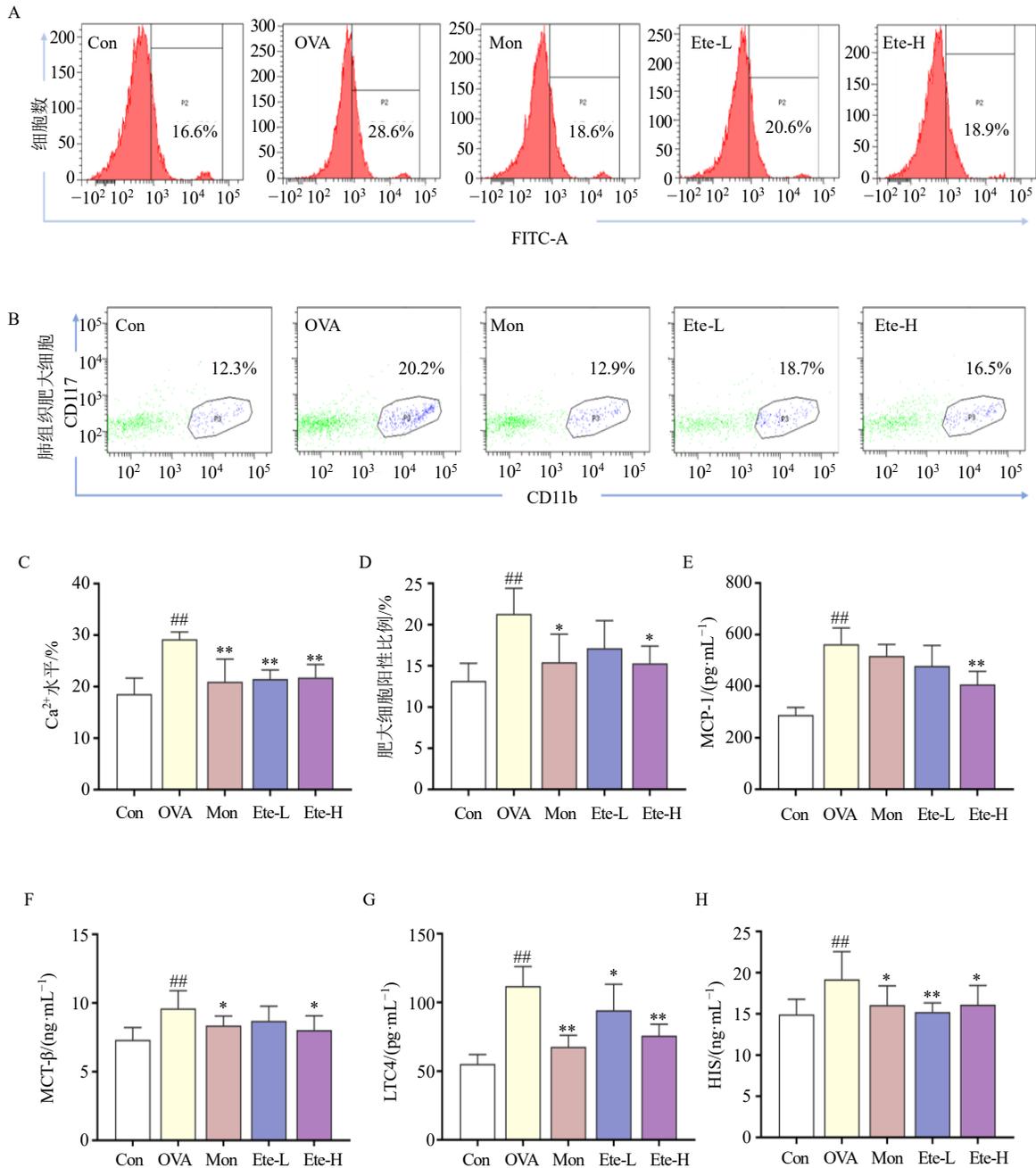
### 3.6 Ete 阻止 OVA 致敏哮喘小鼠气道黏液高分泌

黏液高分泌是哮喘的重要特征，在哮喘的发病机制中起重要作用，为此本研究进一步评价了 Ete 的黏液清除能力。Masson 和 PAS 染色结果显示对照组肺组织未见明显病理变化，模型组黏液分泌明显增多且出现了大面积的胶原沉积 ( $P < 0.01$ , 图 7-A、C、D)；除 Ete 低剂量组外，给药后上述病理改变均明显减轻 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。随后检测了黏蛋白 MUC5AC 以及调控其表达的相关蛋白表达，发现与对照组比较，模型组肺组织中 TGF- $\beta$ 1、Smad3、EGFR

和 MUC5AC 蛋白表达水平均显著升高 ( $P < 0.01$ , 图 7-B、E~H)；与模型组比较，各给药组 TGF- $\beta$ 1、EGFR 和 MUC5AC 蛋白表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )，Ete 高剂量组和孟鲁司特钠组 Smad3 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。以上结果表明 Ete 具有一定程度的黏液清除能力，可呈剂量相关性地减少分泌物的增加，从而改善小鼠过敏性哮喘。

### 4 讨论

哮喘是一种慢性炎症性呼吸道疾病，反复发作，迁延不愈，严重影响患者的身体健康和生



A-流式细胞术检测各组小鼠肺组织  $Ca^{2+}$ 水平; B-流式细胞术检测各组小鼠肺组织肥大细胞水平; C-肺组织  $Ca^{2+}$ 水平量化图; D-肺组织肥大细胞水平量化图; E~H-血清中 MCP-1、MCT- $\beta$ 、LTC4 和 HIS 水平。

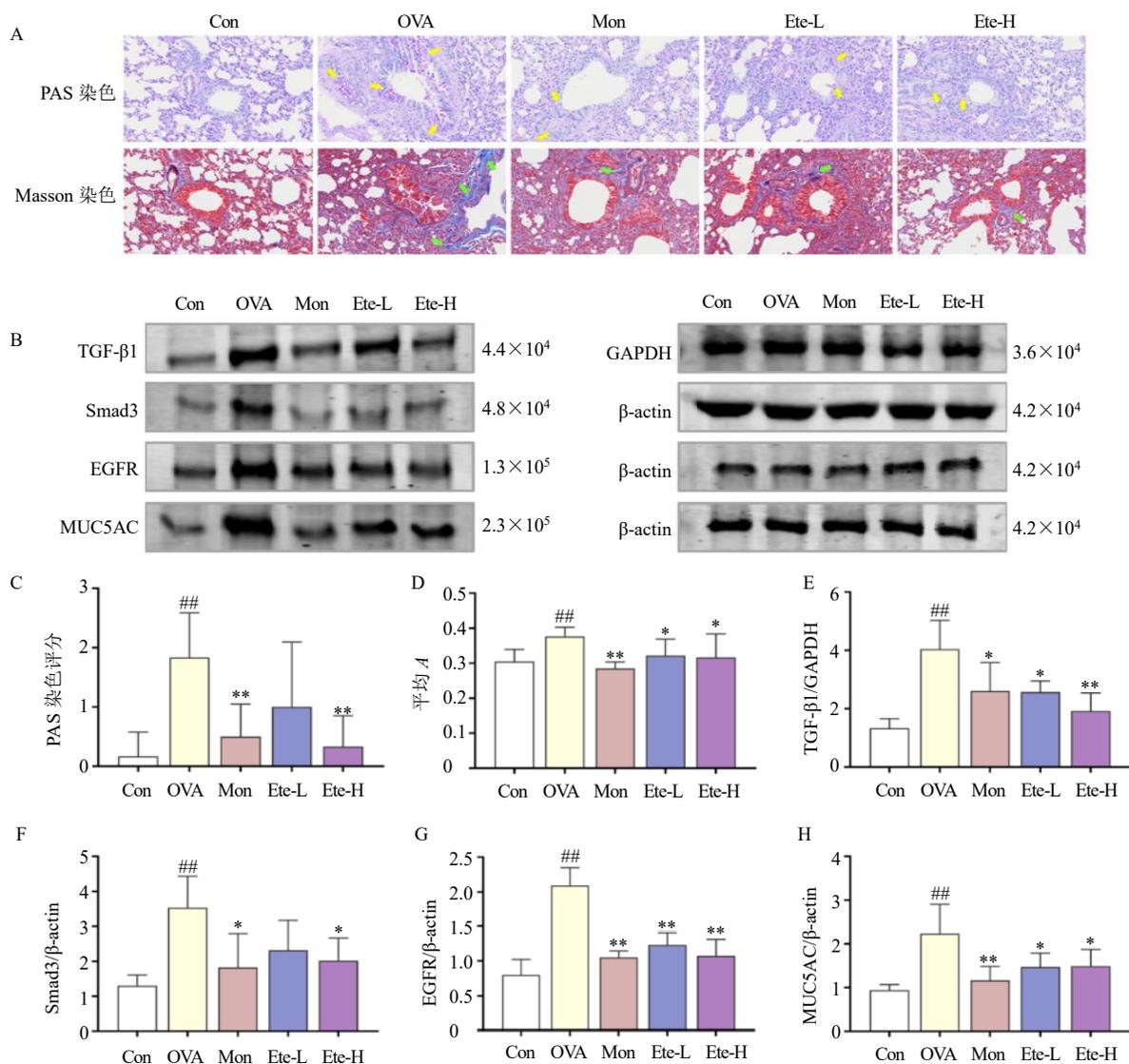
A- $Ca^{2+}$  level in lung tissue of mice detected by flow cytometry; B-mast cells level in lung tissue of mice detected by flow cytometry; C-quantitative analysis of  $Ca^{2+}$  level in lung tissue; D-quantitative analysis of mast cells level in lung tissue; E~H-levels of MCP-1, MCT- $\beta$ , LTC4 and HIS in serum.

图 6 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠机体肥大细胞活化的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 6 Effect of Ete on mast cell activation in organism of OVA-sensitized asthmatic mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

量。在哮喘的治疗中,中医药具有独特的疗效<sup>[20-21]</sup>,其中麻黄作为一种常见的中药,自古以来就被用于缓解哮喘症状,具有显著的疗效<sup>[22]</sup>。本课题组一直致力于麻黄的药效物质基础研究<sup>[12-19]</sup>,并在本研究中发现且证实了麻黄中一种鞣质化合物 Ete 的抗哮喘活性并探究了其作用机制。本研究借助 OVA 致

敏哮喘小鼠模型,发现 Ete 与临床哮喘用药孟鲁司特钠作用趋向一致,有效缓解了哮喘疾病喘息、咳嗽、胸闷和呼吸急促等典型临床表现,以及改善了一些明显的病理特征如气道高反应性、血清 IgE 水平异常。此外,肺部病理切片结果也显示出了 Ete 对于哮喘小鼠肺脏的保护,基于以上 Ete 的作用潜



A-肺组织 PAS、Masson 染色 (×400)，黄色箭头指示黏液分泌，绿色箭头指示胶原沉积；B-Western blotting 蛋白条带示意图；C-PAS 染色评分 (PAS 阳性面积评分标准：气道上皮无阳性着色者 0 分；着色面积 ≤25%者 1 分；着色面积 >25%且 ≤50%者 2 分；着色面积 >50%且 ≤75%者 3 分；着色成团、层叠，面积 >75%者 4 分)；D-Image pro plus 软件分析 Masson 染色中胶原纤维阳性的平均吸光度 (A)；E~H-肺组织 TGF-β1、Smad3、EGFR 和 MUC5AC 蛋白表达水平。

A-PAS and Masson staining of lung tissue (× 400), yellow arrows indicated mucus secretion, and green arrows indicated collagen deposition; B-schematic diagram of Western blotting protein bands; C-PAS staining scoring (PAS positive area scoring criteria: Airway epithelium without positive staining, 0 points; Staining area ≤ 25%, one point; Staining area > 25% and ≤ 50%, two points; Staining area > 50% and ≤ 75%, three points; Staining in clusters and layers with an area > 75%, four points); D-average optical density value of collagen fiber positivity in Masson staining analyzed by Image pro plus software; E~H-TGF-β1, Smad3, EGFR and MUC5AC protein expression levels in lung tissues.

图 7 Ete 对 OVA 致敏哮喘小鼠气道黏液分泌的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effect of Ete on airway mucus secretion in OVA-sensitized asthmatic mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

力，进一步探索了其改善小鼠哮喘的途径。

气道上皮细胞是肺部免疫系统的第一道防线，不仅提供抵御环境损伤的物理屏障，还能指导免疫细胞发挥作用保护肺部免受损伤<sup>[23]</sup>。炎症、氧化应激，细胞凋亡等参与上皮损伤的机制，同时也是上皮损伤的结果，如此循环形成了一个相互影响的网络<sup>[24]</sup>。吕士申等<sup>[25]</sup>发现金合欢素可降低肺泡灌洗液

中 IL-4、IL-5、TNF-α 水平和肺组织中丙二醛水平，升高肺组织中超氧化物歧化酶活性，抑制哮喘幼年大鼠的氧化应激及气道炎症，改善其肺组织损伤。代晓寒等<sup>[26]</sup>表明固本防哮饮可通过降低小鼠机体的 ROS 和丙二醛水平来抑制氧化应激，从而改善哮喘缓解期气道慢性炎症。本研究中 Ete 同样一定程度上抑制了机体的炎症反应，并减轻了小鼠肺部

氧化应激和细胞凋亡。当过敏原接触受损的上皮屏障，树突状细胞被激活，并呈递过敏原刺激 T 细胞分化为 2 型辅助性 T 细胞 (T helper 2 cell, Th2)，Th2 产生 2 型细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 等介导 2 型炎症<sup>[27]</sup>，通常以嗜酸性粒细胞或呼出气一氧化氮水平升高为特征。在本研究中，Ete 与阳性对照药孟鲁司特钠显著抑制了哮喘小鼠机体树突状细胞的激活，降低了后续细胞因子尤其是 IL-13、TNF- $\alpha$  等分泌的可能，进而阻止了小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞数量的增加。可见 Ete 维持着机体炎症与免疫的平衡以缓解哮喘小鼠机体的病理改变。

同时 Th2 产生的 2 型细胞因子刺激 B 细胞产生特异性 IgE 抗体并引发钙离子内流<sup>[28]</sup>。IgE 抗体与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的高亲和力受体结合，完成致敏过程，当机体再次接触相同过敏原时这些细胞开启脱颗粒进程，引起打喷嚏、瘙痒、鼻塞等典型症状，这也为哮喘气道炎症、气道高反应、气道重塑的病理生理变化的起始点。其中，肥大细胞作为哮喘速发反应的主要细胞，具有高度的变态反应性，是哮喘发病机制中的关键效应细胞。肥大细胞脱颗粒释放大量过敏介质包括组胺、白三烯、前列腺素等<sup>[29]</sup>。这些介质释放入血参与哮喘的发生发展的病理过程，贯穿于哮喘的早发与迟发型变态反应中，与气道的高反应性、气道炎症及气道重塑等存在密切联系。既往研究表明，滨蒿内酯可抑制肥大细胞激活及其脱颗粒进程中关键介质组胺和类胰蛋白酶的释放，有效地减轻哮喘的炎症症状<sup>[30]</sup>。本研究中 Ete 也具有类似滨蒿内酯抑制肥大细胞活化和脱颗粒进程的疗效，且 Ete 高剂量疗效优于低剂量。但是，后续的实验研究未能进一步探讨 Ete 干预哮喘小鼠肥大细胞脱颗粒进程的具体通路机制，是本研究存在的局限性，也是本研究后续再挖掘的一个出发点。

支气管哮喘是一种气道炎症性疾病，炎症、气道重塑等多种因素引起的黏液高分泌是哮喘的主要病理学特征<sup>[31]</sup>。气道上皮杯状细胞合成并分泌的黏液是气道黏液的主要来源，而 MUC5AC 是人体呼吸道黏液的主要成分<sup>[32]</sup>。哮喘病理状态下，气道上皮杯状细胞加速分化并分泌大量黏液影响机体肺功能。研究表明，IL-13 可作为哮喘气道黏液高分泌的“诱导剂”<sup>[33]</sup>，作用于 TGF- $\beta$ 1、EGFR、信号转导及转录激活因子 6 (signal transducer and activator of transcription 6, STAT6) 及核因子- $\kappa$ B

(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 等多个靶点参与气道上皮杯状细胞增生、MUC5AC 表达等过程。同样有文献报道 TGF- $\beta$ 1 与 EGFR 信号通路的激活可引起支气管上皮细胞 MUC5AC 和 MUC5B 表达增加<sup>[34-35]</sup>。既往研究也证明了加味金匱肾气丸下调 MUC5AC、EGFR 蛋白表达水平，抑制气道上皮杯状细胞的高分泌状态，从而改善哮喘气道重塑<sup>[36]</sup>；麻芍平喘汤通过调节 MUC5AC、TGF- $\beta$ 1 的表达改善气道重塑、气道黏液高分泌治疗哮喘<sup>[37]</sup>。为了探究 Ete 的黏液清除能力，本研究主要评价了调控黏蛋白 MUC5AC 表达的相关指标，发现 Ete 与阳性对照药孟鲁司特钠可同时抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad3 和 EGFR 信号通路的激活参与黏液清除过程。然而，TGF- $\beta$ 1/Smad3 与 EGFR 2 条信号通路在黏液分泌进程中的相关性未在本研究中作进一步探讨，有待后续研究揭示。

综上，本研究结果表明 Ete 通过平衡机体炎症和免疫反应，进而抑制肥大细胞活化和黏液蛋白分泌来改善 OVA 诱导的小鼠过敏性哮喘。本研究为丰富麻黄抗哮喘的研究以及开发麻黄临床应用的新疗法提供了实验依据。同时，本研究在机制探索部分存在的局限性也启示着对后续实验设计完整性的评估与完善。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 蒋紫云, 孟星汝, 周谨希, 等. 基于 NF- $\kappa$ B 通路调控 Th1/Th2 平衡探讨三子汤治疗支气管哮喘急性发作期的临床研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(20): 2817-2821.
- [2] Muhamad S A, Safuan S, Stanslas J, et al. *Lignosus rhinocerotis* extract ameliorates airway inflammation and remodelling via attenuation of TGF- $\beta$ 1 and Activin A in a prolonged induced allergic asthma model [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 18442.
- [3] Pak S W, Lee I S, Kim W I, et al. *Melia azedarach* L. reduces pulmonary inflammation and mucus hypersecretion on a murine model of ovalbumin exposed asthma [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 320: 117426.
- [4] Peng W, Xia Q X, Zhang Y, et al. VEGF and EGFR signaling pathways are involved in the baicalin attenuation of OVA-induced airway inflammation and airway remodeling in mice [J]. *Respir Res*, 2024, 25(1): 10.
- [5] Shan Y W, Wu J B, Dai X H, et al. Jiangqi Pingxiao Formula regulates dendritic cell apoptosis in an autophagy-dependent manner through the AMPK/mTOR pathway in a murine model of OVA-induced asthma [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117405.
- [6] 傅阳, 袁培培, 侯颖, 等. 基于 GnRHR 信号通路探讨升浮药麻黄与沉降药葶苈子干预哮喘作用差异 [J].

- 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2553-2562.
- [7] 许杰红, 曹厚然, 陈玉兴. 中药单剂炙麻黄、麻黄对哮喘大鼠气道炎症反应的影响 [J]. 新中医, 2014, 46(12): 197-199.
- [8] Jia J F, Zeng M N, Zhu D H, *et al.* An amide alkaloid isolated from *Ephedra sinica* ameliorates OVA-induced allergic asthma by inhibiting mast cell activation and dendritic cell maturation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 13541.
- [9] 郑亚娟, 袁培培, 傅阳, 等. 基于 cAMP/PKA/CREB 信号通路探讨麻黄生物碱组分对过敏性哮喘大鼠的抗炎机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(11): 1453-1459.
- [10] Liu J X, Yuan H Y, Li Y N, *et al.* *Ephedra sinica* polysaccharide alleviates airway inflammations of mouse asthma-like induced by PM<sub>2.5</sub> and ovalbumin via the regulation of gut microbiota and short chain fatty acid [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2022, 74(12): 1784-1796.
- [11] Zhang B B, Zeng M N, Zhang Q Q, *et al.* *Ephedrae Herba* polysaccharides inhibit the inflammation of ovalbumin induced asthma by regulating Th1/Th2 and Th17/Treg cell immune imbalance [J]. *Mol Immunol*, 2022, 152: 14-26.
- [12] 范锡玲, 曹彦刚, 焦新棉, 等. 中麻黄中 2 个新天然产物 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1899-1907.
- [13] 范锡玲, 曹彦刚, 焦新棉, 等. 中麻黄的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(3): 415-422.
- [14] 范锡玲, 曹彦刚, 郑晓珂, 等. 中麻黄二氯甲烷萃取部位化学成分研究 [J]. 药学报, 2024, 59(9): 2574-2580.
- [15] 陶思琦, 朱登辉, 张靖柯, 等. 木贼麻黄乙酸乙酯部位化学成分及抗哮喘活性研究 [J]. 中药材, 2024, 47(6): 1449-1453.
- [16] 张博文, 李孟, 王小兰, 等. 草麻黄根中一个新软木脂类化合物 [J]. 药学报, 2024, 59(3): 661-666.
- [17] 朱登辉, 张靖柯, 李孟, 等. 木贼麻黄茎木脂素成分及其抗哮喘活性 [J]. 中成药, 2023, 45(5): 1513-1520.
- [18] 朱登辉, 张靖柯, 李孟, 等. 木贼麻黄茎的二氯甲烷萃取部位化学成分研究 [J]. 中药材, 2023, 46(2): 353-357.
- [19] 朱登辉, 张靖柯, 李孟, 等. 木贼麻黄二氯甲烷萃取部位化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(3): 236-242.
- [20] Boskabady M H, Tabatabaee A, Byrami G. The effect of the extract of *Crocus sativus* and its constituent safranal, on lung pathology and lung inflammation of ovalbumin sensitized guinea-pigs [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(10): 904-911.
- [21] Kianmehr M, Haghmorad D, Nosratabadi R, *et al.* The effect of *Zataria multiflora* on Th1/Th2 and Th17/T regulatory in a mouse model of allergic asthma [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 458.
- [22] Huang X F, Cheng W B, Jiang Y, *et al.* A network pharmacology-based strategy for predicting anti-inflammatory targets of *Ephedra* in treating asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106423.
- [23] Hoffmann F, Ender F, Schmutte I, *et al.* Origin, localization, and immunoregulatory properties of pulmonary phagocytes in allergic asthma [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 107.
- [24] Ahmad T, Kumar M, Mabalirajan U, *et al.* Hypoxia response in asthma: Differential modulation on inflammation and epithelial injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 47(1): 1-10.
- [25] 吕士申, 张忠文, 邵淑琳. 金合欢素对哮喘幼年大鼠的改善作用及机制 [J]. 中国药房, 2024, 35(20): 2466-2470.
- [26] 代晓寒, 赵霞, 严花, 等. 固本防哮饮对支气管哮喘缓解期模型小鼠肺组织氧化应激与 AMPK/Nrf2/HO-1 通路的影响 [J]. 中医杂志, 2024, 65(2): 205-212.
- [27] Saeki M, Nishimura T, Kitamura N, *et al.* Potential mechanisms of T cell-mediated and eosinophil-independent bronchial hyperresponsiveness [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 2980.
- [28] Kawakami T, Kashiwakura J I, Kawakami Y. Histamine-releasing factor and immunoglobulins in asthma and allergy [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2014, 6(1): 6-12.
- [29] Jeong S, Kim Y Y, Lee D, *et al.* Hispidulin alleviates mast cell-mediated allergic airway inflammation through FcεR1 and Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(5): 528.
- [30] 滕赞, 姜晖, 王嫫, 等. 滨蒿内酯对豚鼠肥大细胞释放组胺、类胰蛋白酶及细胞内钙的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2012, 22(13): 1-5.
- [31] 黄柯婷, 王志旺, 梁可克, 等. IL-13 激活杯状细胞参与哮喘气道黏液高分泌的研究新进展 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(10): 1416-1421.
- [32] Jung M A, Lee J Y, Kim Y J, *et al.* *Dictamnus dasycarpus* Turcz. attenuates airway inflammation and mucus hypersecretion by modulating the STAT6-STAT3/FOXA2 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116319.
- [33] Wu W L, Gao J L, Chen D, *et al.* Epithelial microRNA-30a-3p targets RUNX2/HMGB1 axis to suppress airway eosinophilic inflammation in asthma [J]. *Respir Res*, 2022, 23(1): 17.
- [34] Zheng Y, Li L, Cai T T. *Cordyceps* polysaccharide ameliorates airway inflammation in an ovalbumin-induced mouse model of asthma via TGF-β1/Smad signaling pathway [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2020, 276: 103412.
- [35] Jia Z R, Bao K F, Wei P, *et al.* EGFR activation-induced decreases in claudin1 promote MUC5AC expression and exacerbate asthma in mice [J]. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(1): 125-134.
- [36] 郭祥, 宋红, 陈家昊, 等. 加味金匱肾气丸调控 MUC5AC/EGFR 通路干预铁死亡改善肾虚证哮喘大鼠的机制研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2024, 48(11): 1334-1344.
- [37] 杨勤军, 王心恒, 杨程, 等. 麻芍平喘汤对哮喘大鼠气道重塑和气道炎症及肺组织 TGF-β1、Muc5AC 蛋白表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(5): 154-159.